

The Hague, 25 February 2008

I herewith declare that the enclosed translation is a true and complete translation of the Dutch priority application no. NL 1021843, filed on 5 November 2002.

The Representative,  
ARNOLD & SIEDSMA

  
VAN KOOIJ, Adriaan



Translation

**KINGDOM OF THE NETHERLANDS**

**PATENT OFFICE**

This is to certify that in the Netherlands on the  
5th of November 2002, under number 1 021 843,  
in the name of

**UNIVERSITEIT TWENTE**

of Enschede

a patent application was filed, entitled:

“Biomedical structures of poly (1,3-trimethylene carbonate) (poly (TMC))”,  
and that the documents affixed hereunto fully correspond with the documents  
originally filed with said application.

Given at Rijswijk, this 11 November 2003

For the President of the Patent Office,

Mw. I.W. Scheevelenbos-de Reus

**ABSTRACT**

The present invention relates to biomedical structures of poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) with improved  
5 mechanical properties for both *in vivo* and *in vitro* application in implants, matrices and support devices, particularly in the field of tissue generation and tissue regeneration, obtainable by: 1) providing poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)); 2) molding the poly(1,3-  
10 trimethylene carbonate) (poly(TMC)) into a structure; and 3) irradiating said structure with actinic radiation in an inert atmosphere.

**BIOMEDICAL STRUCTURES OF POLY(1,3-TRIMETHYLENE  
CARBONATE) (POLY(TMC))**

The present invention relates to biomedical  
5 structures of poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC))  
with improved mechanical properties for application, *in vivo*  
as well as *in vitro*, as or in implants, matrices, and support  
devices particularly in the field of tissue generation and  
tissue regeneration.

10 Tissue generation and tissue regeneration is a  
rapidly developing technical field. A condition for  
successful tissue generation and regeneration is, in addition  
to the use of suitable cells, the availability of usable  
elastomer structures for *in vivo* and *in vitro* use in  
15 implants, matrices or support devices. These structures  
function as a framework in which or on which the cells can  
grow and differentiate to form the desired tissue of the  
desired tissue component. Such a framework is subjected to a  
dynamic and static load which occurs in the body or during  
20 the tissue culture, wherein the developing tissue is exposed  
to pressure, strain, shear, tension and/or cyclic forces.

There is therefore a need for elastomer structures  
which have mechanical properties such that they can withstand  
these forces. It is also desirable in many cases that these  
25 elastomer structures are also biodegradable.

At the moment these elastomer structures are  
generally made of (co)polymers on a glycolide and a lactide  
basis, such as copolymers of lactide and  $\epsilon$ -caprolactone,  
networks of poly-4-hydroxybutyrate and poly(glycerol-  
30 sebacate), and copolymers on the basis of 1,3-trimethylene  
carbonate. However, these polymers do not have to a  
sufficient degree the properties required to obtain

structures which are suitable for use in or as implants, matrices or support devices for biomedical applications.

The mechanical properties of a biomedical structure can be improved synthesizing them on the basis of poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)), Pêgo et al., 2001, Copolymers of trimethylene carbonate and  $\epsilon$ -caprolactone for porous nerve guides: synthesis and properties. J. Biomater Sci Polym. Ed. **12**, 35-53. Pêgo et al describe obtaining a poly (1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) polymer which exhibited strain-induced crystallization whereby a structure was obtained with improved mechanical properties compared to other polymers. This polymer does not however provide in sufficient measure the properties required to make elastomer structures for use in or as implants, matrices and support devices, particularly in respect of dynamic and/or static loading for a long period without substantial permanent deformation, the possibility of simple and repeated sterilization, and flexibility in respect of varying the mechanical properties subject to the application.

No substantial permanent deformation as used herein is understood to mean a permanent deformation of less than 7.5% of the elongation applied.

In the research which resulted in the present invention it was found surprisingly that irradiation, in an inert atmosphere, of structures of poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) results in a change in the mechanical properties of the structure, whereby it becomes highly suitable for use in or as implant, matrix, and/or support device both *in vivo* and *in vitro*.

This was surprising because it is generally assumed that irradiation results in breaking of the chains of the poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) polymer, which is precisely what leads to a deterioration in the desired

properties. The researchers found however that this effect is greatly reduced by performing the irradiation in an inert atmosphere, whereby the ratios between the rates of the cross-linking reactions and the rates of the decomposition reactions were positively affected.

The present invention therefore relates to a structure of poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) obtainable by:

1. providing poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC));
1. molding the poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) into a structure; and
2. irradiating said structure with actinic radiation in an inert atmosphere.

The poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) is preferably provided by making use of the method as described in Pêgo *et al.*, 2001, Copolymers of trimethylene carbonate and  $\epsilon$ -caprolactone for porous nerve guides: synthesis and properties. *J. Biomater Sci Polym. Ed.* **12**, 35-53, although other methods of synthesizing the polymer are also suitable.

The provided poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) is molded to the desired structure subject to the application. Any molding technique known in the technical field can in general be used. Examples of known techniques are injection molding, injection, extrusion, pressure molding, "in mold labeling" casting, freeze-drying and lithography.

Irradiation of the molded structure of poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) with actinic radiation causes a specific cross-linking in the structure which results in a structure which is highly suitable for biomedical applications.

In addition, the use of actinic radiation for cross-linking has the advantage that no additional compounds have to be added to the polymer to obtain cross-links. These compounds are often toxic and therefore unsuitable for  
5 medical use and cell culture. These compounds can also greatly affect the properties of the molded structure.

The use of actinic radiation has the further advantage that the cross-linking process can be precisely regulated by means of a constant irradiation dosage. This  
10 results in a reproducible quality of the obtained structures. In addition, the degree of cross-linking can be precisely controlled by varying the irradiation dosage, thereby achieving flexibility in respect of the desired mechanical properties.

15 In a preferred embodiment the provided polymer has a number average molecular weight ( $M_n$ ) greater than 50000. The use of poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) with a  $M_n$  lower than 50000 has the drawback that the polymer is not sufficiently form-retaining, so that the molding of a  
20 permanent structure is difficult. The polymers with a number average molecular weight of 50000, 100000, 135000, 189000, 200000, 270000 and 300000 also provide the advantage that they can still be shaped sufficiently so that the desired structure is easily obtained. Particularly suitable are the  
25 polymers with a number average molecular weight of 100000, 135000, 189000, 200000, and in addition 135000 to 189000 or to 200000.

The actinic radiation used is preferably a radiation with a good cross-linking and little decomposition,  
30 sufficiently high energy content, such as gamma radiation, high-energy UV-radiation and electron radiation. High-energy radiation has the advantage that the cross-linking process progresses relatively quickly, this being of particular

importance in respect of production costs. Gamma radiation is especially suitable as high-energy radiation. Gamma radiation is an inexpensive, generally available radiation source which is easy to use. The use of gamma radiation has the additional  
5 advantage that the structures are simultaneously sterilized, which is a condition for the use of elastomer structures for biomedical applications.

In a preferred embodiment of the present invention the radiation source is gamma radiation and the irradiation  
10 dosage is 5, 10, 25, 45 or 100 kGy. The irradiation dosage in the range of 5-100 kGy, preferably 10-110 kGy, such as 10 to 45 kGy, results in an effective cross-linking of the structure. A lower irradiation dosage makes the cross-linking process too slow. A higher irradiation dosage makes the  
15 cross-linking process progress too rapidly. The process also becomes difficult to control in this case.

Specially recommended is an irradiation dosage of 10, 15, 25, 40 or 45 kGy. Such a dosage is easily obtained by making use of generally available radiation sources for a  
20 relatively short period of time. In particular use can be made of existing medical sterilization equipment.

According to an aspect of the invention, the inert atmosphere is obtained by means of a reduced pressure of less than  $10^4$  Pa. Such a pressure can be readily obtained by  
25 making use of simple means such as for instance a water jet pump.

According to another embodiment, the inert atmosphere is obtained by making use of an inert gas. Such gases are easy to handle and do not generally require any special  
30 production modifications such as for instance an explosion-proof chamber. The use of nitrogen is recommended as inert gas. Such a gas is inexpensive and generally obtainable.



The elastomer structures according to the present invention preferably have a creep rate of less than about  $1.9 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  at an applied stress of 0.2 MPa. The creep rate of a structure of a polymer is defined as a progressive  
5 deformation of the polymer material in the course of time while the structure is continually exposed to dynamic and/or static forces. Structures with such a creep rate are sufficiently able to withstand, both *in vivo* and *in vitro*, the forces occurring in the body and during the tissue  
10 culture.

It is recommended that the structure has a swelling of less than 400(%) in chloroform.

In addition, optimum results are achieved when the structure has a gel fraction of more than 10% by weight.

15 The above described structures are biodegradable, which is an important property for biomedical applications. In addition, the structure is sufficiently resistant to the conditions which occur during sterilization, particularly in a generally available autoclave. This has the advantage that  
20 the molded structure, after production, is only sterilized if necessary just before the intended application such as implantation or tissue culture, which greatly simplifies the pretreatments.

The present invention also relates to a method for  
25 providing the structures according to the present invention, which method comprises of

- a. providing poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC));
- b. molding the poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) into a structure; and  
30
- c. irradiating said structure with actinic radiation in an inert atmosphere.

The structures obtained according to the method are highly suitable for use as implants, matrices and support structures owing to their greatly improved resistance to the dynamic and static loads both in the body and in the tissue culture, the absence of toxic substances, the biodegradability, the fact that they can be sterilized, and their structure suitable for cell growth.

The structures according to the invention can be applied in biomedical practice. They can be used as implant that has as function a temporary provision of a carrier material for cells and cell growth or substitute material, for instance a heart valve or a separating membrane. The structures can also be used as a matrix. This matrix is used mainly *in vitro* to culture tissues and tissue components. The matrix has a porous structure, for instance for culture of cells in the whole structure or a solid structure, for instance for culture of cells on the surface in accordance with the desired application. Because the structures according to the invention are suitable for any application wherein it is necessary to provide a framework/substrate to for instance growing cells, the invention also relates to support devices in general.

The invention will be further described with reference to the following embodiment and figures which are given by way of illustration and are not intended to limit the invention in any way whatsoever.

#### FIGURES

Figure 1. Young's Modulus, the stress at yield ( $\sigma_{\text{yield}}$ ) and the maximum tensile strength ( $\sigma_{\text{max}}$ ) as a function of the number average molecular weight ( $M_n$ ) of poly(TMC)).

Figure 2. The cyclic tensile test for poly(TMC)<sub>3</sub> after irradiation.

#### EXAMPLE

#### 5 Material and Methods

##### Polymer synthesis

In an argon atmosphere a quantity of 1,3 trimethylene carbonate (Boehringer Ingelheim Bioproducts Partnership, Germany) is charged in freshly silanized and dried glass  
10 ampules.  $2 \times 10^{-4}$  mol stannous octoate per mol monomer was added as solution in sodium dried pentane. The pentane was then removed by means of evacuation. The ampules were purged three times with dry argon and heat-sealed under vacuum. Different poly(TMC) samples were synthesized (Table I). For  
15 the samples 1 and 2,  $2 \times 10^{-5}$  mol hexanol was added per mol monomer. In this case the purging step was carried out after cooling the ampules with liquid nitrogen with the object of preventing evaporation of the hexanol.

By exposing the monomer to air for different periods  
20 of time the purity of the monomer can be reduced in a more or less controllable manner. In this way high-molecular poly(TMC) can be obtained with different molecular weights. For the samples 3 to 8 the monomer was exposed to air for a time period of up to 120 min. The heat-sealed ampules were  
25 conditioned in an oil bath preheated to the polymerization temperature and shaken forcefully to obtain a homogeneous mixture of the monomer and the catalyst. Polymerization was carried out for a period of 2 hours (sample 1), of 3 hours (sample 2) or of 3 days at  $130^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  for the other polymer  
30 samples. After the selected reaction time the ampules were cooled quickly to room temperature and the polymers were discharged. The polymers were purified using dissolution in chloroform (2-5% wt/vol), filtration of the solutions through

a sintered glass filter and subsequent precipitation in a ten-fold volume of methanol. The polymers were then collected and dried under reduced pressure at room temperature until they had a constant weight.

5 **Table 1.**

Sample	$M_n \times 10^{-5}$	$M_w \times 10^{-5}$	PDI	$[\eta]$ (dl/g)	Tg (°C)
Poly(TMC) <sub>1</sub>	0.57	0.92	1.62	1.19	-19
Poly(TMC) <sub>2</sub>	1.09	1.85	1.7	1.79	-18
Poly(TMC) <sub>3</sub>	2.72	5.38	1.98	4.51	-19
10 Poly(TMC) <sub>4</sub>	3.06	5.3	1.73	4.29	-17
Poly(TMC) <sub>5</sub>	3.27	4.82	1.47	4.2	-19
Poly(TMC) <sub>6</sub>	3.33	5.83	1.75	4.52	-17
Poly(TMC) <sub>7</sub>	3.37	5.59	1.67	4.49	-17
Poly(TMC) <sub>8</sub>	3.55	6.17	1.74	4.85	-18

15

The Young's Modulus, the yield stress ( $\sigma_{\text{yield}}$ ) and the maximum stress ( $\sigma_{\text{max}}$ ) as a function of the number average molecular weight ( $M_n$ ) of the poly(TMC) polymers is shown in figure 1.

20

### **The molding of polymer structures**

Compression-molding of the purified polymers was carried out using a Fontijne laboratory press THB008 in stainless steel molds with a thickness of 600  $\mu\text{m}$ . The films  
25 were compressed at 140°C and then cooled under pressure to 15°C.

### **Gamma radiation**

Poly(TMC) samples were placed in bags of  
30 poly(ethylene)/poly(amide) under vacuum under  $\text{N}_2$ , or under air and sealed. The samples were exposed to 15, 25 and 50 kGy gamma radiation obtained from a  $^{60}\text{Co}$  source.

Equilibrium swelling experiments were carried out in chloroform at room temperature. The samples were swollen for one week in order to achieve equilibrium and the extracted gels were then dried in a vacuum at room temperature for two weeks until they had a constant weight. The gel and sol fractions of the irradiated samples were calculated.

## RESULTS

After irradiation there were structures of poly(TMC) obtained with a degree of swelling and a gel fraction as shown in table II.

Table II

15	Irradiation dosage (kGy)	Degree of swelling (%)	Gel fraction (wt%)
	15	355	15
	25	140	33
	40	61	51

Table III shows the degree of swelling and the gel fraction of poly(TMC) after an irradiation of 25 kGy under vacuum, under nitrogen and under air.

Table III

Atmosphere	Degree of swelling (%)	Gel fraction (wt%)
vacuum	84	54
nitrogen	83	48
air	107	29

A great improvement was observed in respect of the permanent deformation during cyclic deformation up to 50% strain of the irradiated samples. Compared with the untreated samples, the irradiated samples displayed a better recovery 2 hours after 20 (respectively 3% against 4.6%) successive deformation cycles (Figure 2), and a much higher creeping resistance (Table IV).

Table IV

Applied stress (MPa)	Plateau creep rate ( $s^{-1}$ ), vacuum	Plateau creep rate ( $s^{-1}$ ), air	Plateau creep rate ( $s^{-1}$ ) untreated
0.1	$0.4 \times 10^{-5}$	$0.9 \times 10^{-5}$	$1.9 \times 10^{-5}$
0.2	$1.2 \times 10^{-5}$	$1.9 \times 10^{-5}$	$2.4 \times 10^{-5}$
0.4	$2.7 \times 10^{-5}$	$8.8 \times 10^{-5}$	$3.8 \times 10^{-5}$
0.6	$6.5 \times 10^{-5}$	-	$12.5 \times 10^{-5}$

## CONCLUSION

Gamma irradiation of poly(TMC) results in simultaneous cross-linking and chain **breakage**. The ratio between chain **breakage** rate and cross-linking rate is 0.78 per unit of irradiation dosage. After irradiation of the polymer structure a non-soluble network is formed with more cross-linking when the irradiation dosage is increased. The

mechanical properties of the irradiated polymer structures are greatly improved after irradiation, particularly with a view to the creeping properties.

**CLAIMS**

1. Structure of poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) obtainable by:

- 5           a) providing poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC));
- b) molding the poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) into a structure; and
- 10           c) irradiating said structure with actinic radiation in an inert atmosphere.

2. Structure as claimed in claim 1, wherein the poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) is characterized by a number average molecular weight ( $M_n$ ) greater than 50000, preferably 50000 to 300000, more preferably 100000 to 200000.

15

3. Structure as claimed in claims 1-2, wherein the actinic radiation is chosen from the group consisting of gamma radiation, high-energy UV radiation and electron radiation, preferably gamma radiation.

20

4. Structure as claimed in claims 1-3, wherein the actinic radiation is gamma radiation and the irradiation dosage is 5-100 kGy, preferably 10-45 kGy.

25

5. Structure as claimed in claims 1-4, wherein the inert atmosphere is obtained by means of a reduced pressure of less than  $10^4$  Pa.

30           6. Structure as claimed in claims 1-4, wherein the inert atmosphere is obtained by means of an inert gas, preferably nitrogen.



7. Structure as claimed in claims 1-6, wherein the creep rate is less than about  $1.9 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  at 0.2 MPa.

8. Structure as claimed in claims 1-7, wherein the degree of swelling is less than 400(%) in chloroform.

9. Structure as claimed in claims 1-8, wherein the gel fraction is more than 10% by weight.

10. Structure as claimed in claims 1-9, wherein the structure is sterilized again one or more times, sterilization in an autoclave being preferred.

11. Method of obtaining the structure as claimed in any of the claims 1-10, which method comprises of

- a) providing poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC));
- b) molding the poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) into a structure; and
- c) irradiating said structure with actinic radiation in an inert atmosphere.

12. Method as claimed in claim 9, wherein the poly(1,3-trimethylene carbonate) (poly(TMC)) is characterized by a number average molecular weight ( $M_n$ ) greater than 50000, preferably 50000 to 300000, more preferably 100000 to 200000.

13. Method as claimed in claims 11-12, wherein the actinic radiation is chosen from the group consisting of gamma radiation, high-energy UV radiation and electron radiation, preferably gamma radiation.

14. Method as claimed in claims 11-13, wherein the actinic radiation is gamma radiation and the irradiation dosage is 5-100 kGy, preferably 15-40 kGy.

5           15. Method as claimed in claims 11-14, wherein the inert atmosphere is obtained by means of a reduced pressure of less than  $10^4$  Pa.

10           16. Method as claimed in claims 11-14, wherein the irradiation is carried out in an inert gas, preferably nitrogen.

15           17. Use of the structure as claimed in claims 1-10, or obtained as claimed in claims 11-16, in an implant and/or a matrix and/or a support device.

18. Medical implant and/or matrix and/or support device comprising the structure as claimed in claims 1-10 or obtained in the method as claimed in claims 11-16.



FIGURE 1

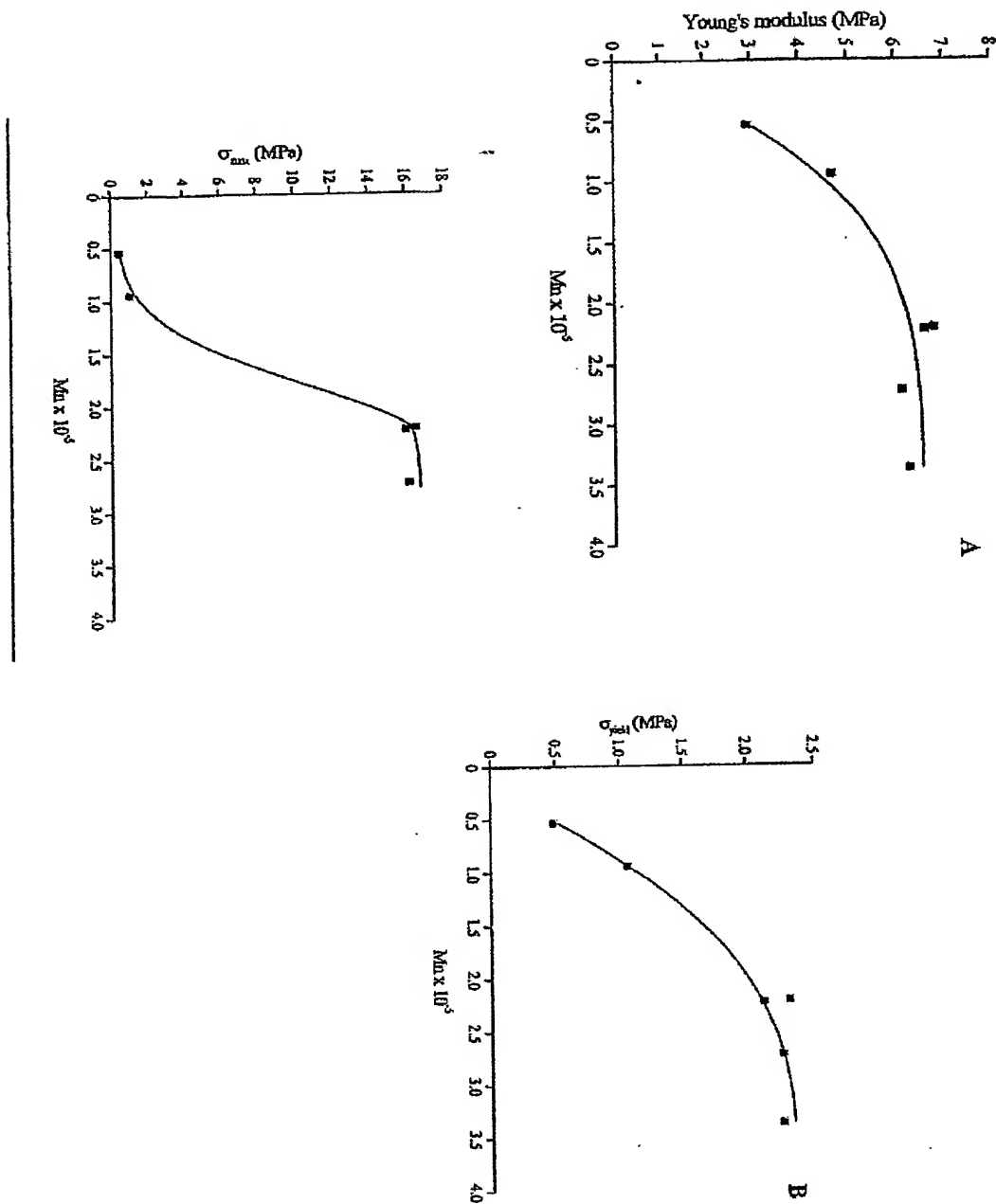
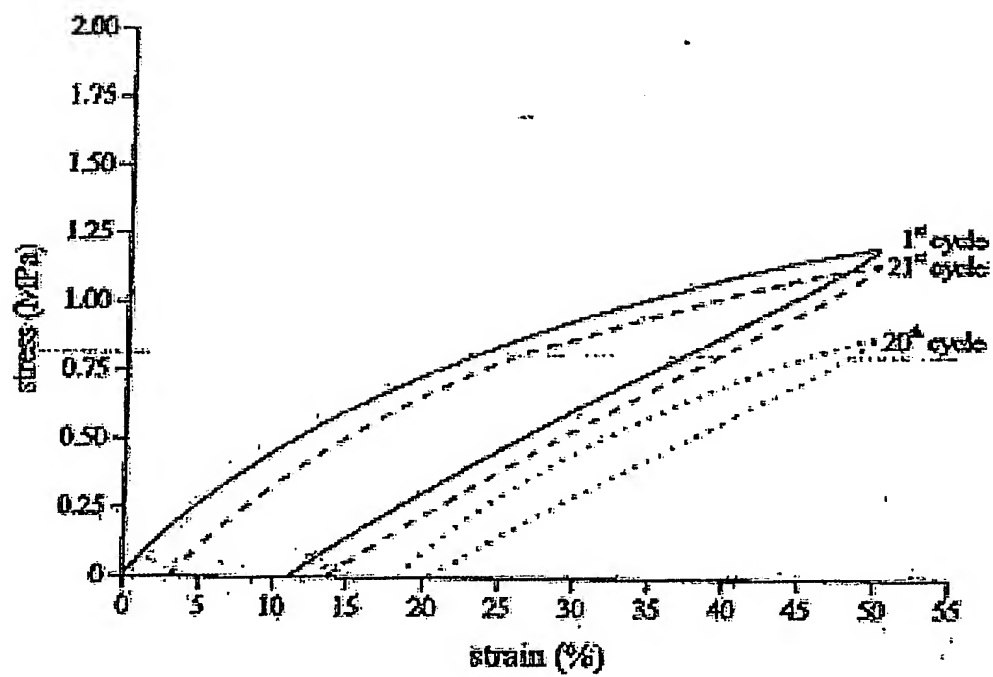


FIGURE 2

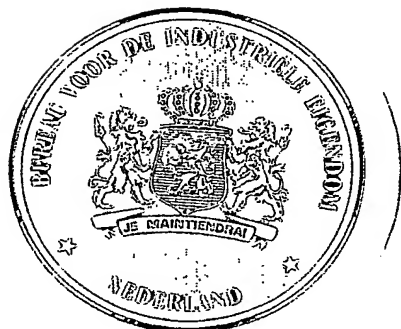


KONINKRIJK DER



NEDERLANDEN

## Bureau voor de Industriële Eigendom



**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

REC'D 08 JAN 2004

WIPO PCT

Hierbij wordt verklaard, dat in Nederland op 5 november 2002 onder nummer 1021843,  
ten name van:

**UNIVERSITEIT TWENTE**

te Enschede

een aanvraag om octrooi werd ingediend voor:

"Biomedische structuren van poly (1,3-trimethyleencarbonaat) (poly (TMC))",

en dat de hieraan gehechte stukken overeenstemmen met de oorspronkelijk ingediende stukken.

Rijswijk, 11 november 2003

De Directeur van het Bureau voor de Industriële Eigendom,  
voor deze,

Mw. I.W. Scheevelenbos-de Reus

102

B. v.d. I.E.

5 NOV. 2002

1

# UITSTREKSEL

De onderhavige uitvinding betreft biomedische structuren van poly(1,3-trimethyleencarbonaat) (poly(TMC)) met verbeterde  
5 mechanische eigenschappen voor zowel *in vivo* als *in vitro* toepassing in implantaten, matrices, en ondersteuninginrichtingen met name op het gebied van de weefselgeneratie en de weefselregeneratie, verkrijgbaar door:  
1) het verschaffen van poly(1,3-trimethyleen  
10 carbonaat) (poly(TMC)); 2) het vormen van het poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) tot een structuur; en 3) het bestralen van de genoemde structuur met actinische straling in een inerte atmosfeer.

74

BIOMEDISCHE STRUCTUREN VAN POLY(1,3-  
TRIMETHYLEENCARBONAAT) (POLY(TMC))

De onderhavige uitvinding betreft biomedische  
5 structuren van poly(1,3-trimethyleencarbonaat) (poly(TMC)) met  
verbeterde mechanische eigenschappen voor toepassing, zowel  
in vivo als wel in vitro, als of in implantaten, matrices, en  
ondersteuninginrichtingen met name op het gebied van de  
weefselgeneratie en de weefselregeneratie.

10 Weefselgeneratie en weefselregeneratie is een zich  
snel ontwikkelend vakgebied. Een voorwaarde voor succesvolle  
weefselgeneratie en regeneratie is, naast het gebruik van  
geschikte cellen, de beschikbaarheid van bruikbare elastomere  
structuren voor in vivo en in vitro gebruik in implantaten,  
15 matrices of ondersteuningsinrichtingen. Deze structuren  
functioneren als een raamwerk waarin of waarop de cellen  
kunnen groeien en differentiëren tot het gewenste weefsel of  
het gewenste weefselonderdeel. Een dergelijk raamwerk wordt  
onderworpen aan een dynamische en statische belasting die  
20 optreedt in het lichaam of tijdens de weefselkweek waarbij  
het zich ontwikkelende weefsel wordt blootgesteld aan druk,  
rek, afschuif, trek en/of cyclische krachten.

Er bestaat daarom een behoefte aan elastomere  
structuren welke zodanige mechanische eigenschappen bezitten  
25 dat zij bestand zijn tegen deze krachten. Tevens is het in  
veel gevallen wenselijk dat deze elastomere structuren ook  
biodegradeerbaar zijn.

Op dit moment worden in het algemeen deze elastomere  
structuren gemaakt van (co)polymeren op een glycolide en een  
30 lactide basis zoals copolymeren van lactide en  $\epsilon$ -caprolacton,  
netwerken van poly-4-hydroxybutyraat en poly(glycerol-  
sebacaat), en copolymeren op basis van 1,3-  
trimethyleencarbonaat. Echter, deze polymeren bezitten niet

in voldoende mate de eigenschappen die nodig zijn voor het verkrijgen van structuren die geschikt zijn voor gebruik in of als implantaten, matrices, of ondersteuninginrichtingen voor biomedische toepassingen.

5 De mechanische eigenschappen van een biomedische structuur kunnen verbeterd worden door deze te synthetiseren op basis van poly(1,3-trimethyleencarbonaat) (poly(TMC)), Pêgo et al., 2001, Copolymers of trimethylene carbonate and  $\epsilon$ -caprolactone for porous nerve guides: synthesis and  
 10 properties. J. Biomater Sci Polym. Ed. 12, 35-53. Pêgo et al beschrijven het verkrijgen van een poly(1,3-trimethyleencarbonaat) (poly(TMC)) polymeer dat rekgeïnduceerde kristallisatie vertoonde waardoor een structuur met verbeterde mechanische eigenschappen verkregen  
 15 werd in vergelijking met andere polymeren. Echter, dit polymeer verschaft niet in voldoende mate de eigenschappen die nodig zijn voor het maken van elastomere structuren voor gebruik in of als implantaten, matrices en ondersteuninginrichtingen met name met betrekking tot het  
 20 gedurende lange tijd dynamisch en/of statisch belasten zonder substantiële permanente vervorming, de mogelijkheid tot eenvoudige en herhaalde sterilisatie, en flexibiliteit met betrekking tot het variëren van de mechanische eigenschappen naargelang de toepassing.

25 Met geen substantiële permanente vervorming zoals hierin gebruikt wordt, wordt aangeduid een permanente vervorming minder dan 7,5% van de aangelegde verlenging.

In het onderzoek dat leidde tot de onderhavige uitvinding werd verrassenderwijs gevonden dat bestraling, in  
 30 een inerte atmosfeer, van structuren van poly(1,3-trimethyleencarbonaat) (poly(TMC)) leidt tot een verandering in de mechanische eigenschappen van de structuur waardoor deze uitermate geschikt wordt voor gebruik in of als



implantaat, matrix, en/of ondersteuninginrichting zowel *in vivo* als *in vitro*.

Dit was verrassend omdat in het algemeen wordt aangenomen dat bestraling leidt tot een verbreking van de ketens van het poly(1,3-trimethyleencarbonaat) (poly(TMC)) polymeer wat juist tot een verslechtering van de gewenste eigenschappen leidt. Echter de onderzoekers vonden dat dit effect sterk verminderd wordt door de bestraling uit te voeren in een inerte atmosfeer waardoor de verhoudingen tussen snelheden van de verknopingsreacties en de snelheden van de afbraakreacties positief worden beïnvloed.

De onderhavige uitvinding betreft daarom een structuur van poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) verkrijgbaar door:

1. het verschaffen van poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC));
2. het vormen van het poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) tot een structuur; en
3. het bestralen van de genoemde structuur met actinische straling in een inerte atmosfeer.

Het poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) wordt bij voorkeur verschaft door gebruik te maken van de werkwijze zoals die beschreven is in Pêgo et al., 2001, Copolymers of trimethylene carbonate and  $\epsilon$ -caprolacton for porous nerve guides: synthesis and properties. J. Biomater Sci Polym. Ed. 12, 35-53, maar ook andere werkwijzen voor de synthese van het polymeer zijn geschikt.

Het verschaft poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) wordt gevormd tot de gewenste structuur afhankelijk van de toepassing. In het algemeen kan elke in het vakgebied bekende vormingstechniek gebruikt worden. Voorbeelden van bekende technieken zijn spuitgieten,

inspuiting, uitpersing, drukvorming, "in mold labeling" gieten, vriesdrogen, en lithografie.

Door het bestralen van de gevormde structuur van poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) met actinische  
5 straling treedt er in de structuur een specifieke verknoping op wat resulteert in een structuur die uitermate geschikt is voor biomedische toepassingen.

Daarnaast heeft het gebruik van actinische straling voor de verknoping het voordeel dat er geen extra  
10 verbindingen hoeven worden toegevoegd aan het polymeer voor het verkrijgen van verknoppingen. Deze verbindingen zijn vaak toxisch en daarom niet geschikt voor medisch gebruik en celkweek. Ook kunnen deze verbindingen de eigenschappen van de gevormde structuur sterk beïnvloeden.

15 Verder heeft het gebruik van actinische straling het voordeel dat het verknopingsproces nauwkeurig kan worden gereguleerd door middel van een constante stralingsdosis. Dit leidt tot een reproduceerbare kwaliteit van de verkregen structuren. Daarnaast kan de mate van verknoping nauwkeurig  
20 worden beheerst door het variëren van de stralingsdosis waardoor flexibiliteit wordt verkregen met betrekking tot de gewenste mechanische eigenschappen.

In een voorkeursuitvoeringsvorm heeft het verschaft polymeer een aantal gemiddelde molecuulgewicht ( $\bar{M}_n$ ) groter  
25 dan 50000. Het gebruik van poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) met een  $\bar{M}_n$  lager dan 50000 heeft het nadeel dat het polymeer niet voldoende vormvast is zodat het vormen van een permanente structuur moeilijk is. De polymeren met een aantal gemiddelde molecuulgewicht van 50000, 100000,  
30 135000, 189000, 200000, 270000 en 300000 verschaffen tevens het voordeel dat zij nog voldoende vormbaar zijn zodat de gewenste structuur gemakkelijk te verkrijgen is. Met name geschikt zijn de polymeren met een aantal gemiddelde

molecuulgewicht van 100000, 135000, 189000, 200000, en verder 135000 tot 189000 of tot 200000.

De gebruikte actinische straling is bij voorkeur een straling met een goede verknoping en geringe afbraak  
5 voldoende hoge energieinhoud, zoals gammastraling, hoogenergetische UV-straling en elektronenstraling. Hoogenergetische straling heeft het voordeel dat het verknopingsproces relatief snel verloopt wat vooral van belang is met betrekking tot de productiekosten. Speciaal  
10 gammastraling is geschikt als hoogenergetische straling. Gammastraling is een goedkope, algemeen beschikbare en eenvoudig te hanteren stralingsbron. Het gebruik van gammastraling heeft het bijkomende voordeel dat de structuren gelijktijdig worden gesteriliseerd wat een voorwaarde is voor  
15 het gebruik van elastomere structuren voor biomedische toepassingen.

In een voorkeursuitvoeringsvorm van de onderhavige uitvinding is de stralingsbron gammastraling en de stralingsdosis 5, 10, 25, 45 of 100 kGy. De bestralingsdosis  
20 in het gebied van 5-100 kGy, bij voorkeur 10-110 kGy, zoals 10 tot 45 kGy, leidt tot een effectieve verknoping van de structuur. Een lagere stralingsdosis maakt het verknopingsproces te langzaam. Een hogere stralingsdosis laat het verknopingsproces te snel verlopen. Het proces wordt  
25 tevens in dit geval moeilijk beheersbaar.

Speciaal de voorkeur geniet een stralingsdosis van 10, 15, 25, 40 of 45 kGy. Een dergelijke dosis is gemakkelijk te verkrijgen door gebruik te maken van algemeen beschikbare stralingsbronnen gedurende een relatief korte tijdsduur. Met  
30 name kan gebruik worden gemaakt van bestaande medische sterilisatie apparatuur.

Volgens een aspect van de uitvinding wordt de inerte atmosfeer verkregen door middel van een gereduceerde druk van

minder dan  $10^4$  Pa. Een dergelijke druk kan gemakkelijk worden verkregen door gebruik te maken van eenvoudige middelen zoals bijvoorbeeld een waterstraalpomp.

Volgens een andere uitvoeringsvorm wordt de inerte  
5 atmosfeer verkregen door gebruik te maken van een inert gas. Dergelijke gassen zijn gemakkelijk hanteerbaar en vereisen in het algemeen geen speciale productieaanpassingen zoals bijvoorbeeld een explosievrije kamer. De voorkeur geniet het gebruik van stikstof als inert gas. Een dergelijk gas is  
10 goedkoop en algemeen verkrijgbaar.

De elastomere structuren volgens de onderhavige uitvinding hebben bij voorkeur een kruipsnelheid van kleiner dan ongeveer  $1,9 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  bij een aangelegde spanning van 0,2 MPa. De kruipsnelheid van een structuur van een polymeer  
15 wordt gedefinieerd als een voortschrijdende vervorming van het polymeermateriaal in de loop van de tijd terwijl de structuur voortdurend wordt blootgesteld aan dynamische en/of statische krachten. Structuren met een dergelijke kruipsnelheid zijn voldoende in staat om weerstand te bieden,  
20 zowel *in vivo* als *in vitro*, aan de krachten welke optreden in het lichaam en tijdens de weefselkweek.

De voorkeur geniet wanneer de structuur een zwelling heeft van minder dan 400 (%) in chloroform.

Optimale resultaten worden daarnaast bereikt wanneer  
25 de structuur een gelfractie heeft van meer dan 10 gewichtsprocent.

De hierboven beschreven structuren zijn biodegradeerbaar wat een belangrijke eigenschap is voor biomedische toepassingen. Daarnaast is de structuur voldoende  
30 bestand tegen de omstandigheden die zich voordoen tijdens sterilisatie met name in een algemeen beschikbare autoclaaf. Dit heeft tot voordeel dat de gevormde structuur, na productie, indien nodig, pas eerst wordt gesteriliseerd vlak

voor de beoogde toepassing zoals implantatie of weefselkweek hetgeen de voorbehandelingen sterk vereenvoudigd.

De onderhavige uitvinding betreft ook een werkwijze voor het verschaffen van de structuren volgens de

5 onderhavige uitvinding welke werkwijze omvat

- a. het verschaffen van poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC));
- b. het vormen van het poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) tot een structuur; en
- 10 c. het bestralen van de genoemde structuur met actinische straling in een inerte atmosfeer.

De structuren verkregen volgens de werkwijze zijn uitermate geschikt voor gebruik als implantaten, matrices en ondersteuningsstructuren door hun sterk verbeterde weerstand

15 tegen de dynamische en statische belastingen zowel in het lichaam als wel in de weefselkweek, de afwezigheid van toxische stoffen, de biodegradeerbaarheid, hun steriliseerbaarheid, en hun geschikte structuur voor celgroei.

20 De structuren volgens de uitvinding kunnen worden toegepast in de biomedische praktijk. Ze kunnen gebruikt worden als implantaat dat als functie heeft een tijdelijke verschaffing van een dragermateriaal voor cellen en celgroei of vervangingsmateriaal bijvoorbeeld een hartklep of een

25 scheidingsmembraan. Tevens kunnen de structuren gebruikt worden als een matrix. Deze matrix wordt vooral *in vitro* gebruikt voor het kweken van weefsels en weefselonderdelen. De matrix heeft een poreuze structuur voor bijvoorbeeld het kweken van cellen in de gehele structuur of een vaste

30 structuur voor bijvoorbeeld het kweken van cellen op de oppervlakte al naar gelang de gewenste toepassing. Doordat de structuren volgens de uitvinding geschikt zijn voor elke toepassing waarbij het nodig is een raamwerk/substraat te.

verschaffen aan bijvoorbeeld groeiende cellen heeft de uitvinding ook betrekking op ondersteuningsinrichtingen in het algemeen.

5 De uitvinding zal verder worden beschreven aan de hand van het volgende voorbeeld en figuren die worden gegeven als illustratie en die niet bedoeld zijn om de uitvinding op welke wijze dan ook te beperken.

## 10 FIGUREN

Figuur 1. De Young's Modulus, de zwichtspanning ( $\sigma_{\text{zwicht}}$ ) en de maximale spanning ( $\sigma_{\text{max}}$ ) als functie van het aantal gemiddelde molecuul gewicht ( $\bar{M}_n$ ) van poly(TMC)).

15 Figuur 2. De cyclische spanningstest voor poly(TMC)<sub>5</sub> na bestraling.

## VOORBEELD

### Materiaal en Methoden

#### Polymeer synthese

20 In een argon atmosfeer werd een hoeveelheid (1,3 trimethyleen carbonaat (Boehringer Ingelheim Bioproducts Partnership, Duitsland) geladen in vers gesilaniseerde en gedroogde glas ampullen.  $2 \times 10^{-4}$  mol tinooctoat per mol monomeer werden toegevoegd als oplossing in natrium gedroogde

25 pentaan. De pentaan werd hierna verwijderd door middel van verdamping. De ampullen werden driemaal gespoeld met droge argon en onder vacuüm afgesmolten. Verschillende poly(TMC) monsters werden gesynthetiseerd (Tabel I). Voor de monsters 1 en 2 werd  $2 \times 10^{-5}$  mol hexanol per mol monomeer toegevoegd. In

30 dit geval werd de spoelstap uitgevoerd na het koelen van de ampullen met vloeibare stikstof met als doel het voorkomen van de verdamping van de hexanol.

Door het blootstellen van het monomeer aan lucht gedurende verschillende tijdsperioden, kan de zuiverheid van het monomeer verminderd worden op een min of meer beheersbare manier. Op deze manier kan hoog moleculair poly(TMC) verkregen worden met verschillende molecuulgewichten. Voor de monsters 3 tot en met 8 werd het monomeer blootgesteld aan lucht gedurende een tijdsperiode tot 120 min. De afgesmolten ampullen werden geconditioneerd in een oliebad dat voorverwarmd was tot de polymerisatietemperatuur en krachtig geschud voor het verkrijgen van een homogeen mengsel van het monomeer en de katalysator. Polymerisatie werd uitgevoerd gedurende een periode van 2 uur (monster 1), van 3 uur (monster 2) of van 3 dagen bij  $130^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  voor de andere polymeermonsters. Na de geselecteerde reactietijd werden de ampullen snel afgekoeld tot kamertemperatuur en werden de polymeren gelost. De polymeren werden gezuiverd met behulp van dissolutie in chloroform (2-5% wt/vol), filtratie van de oplossingen door een gesinterd glasfilter en vervolgens door precipitatie in een tienvoudig volume methanol. Vervolgens werden de polymeren verzameld en gedroogd onder gereduceerde druk bij kamertemperatuur totdat zij een constant gewicht hadden.

Tabel 1.

Monster	$\bar{M}_n \times 10^{-5}$	$\bar{M}_w \times 10^{-5}$	PDI	$[\eta]$ (dl/g)	Tg ( $^{\circ}\text{C}$ )
25 Poly(TMC) <sub>1</sub>	0,57	0,92	1,62	1,19	-19
Poly(TMC) <sub>2</sub>	1,09	1,85	1,70	1,79	-18
Poly(TMC) <sub>3</sub>	2,72	5,38	1,98	4,51	-19
Poly(TMC) <sub>4</sub>	3,06	5,30	1,73	4,29	-17
Poly(TMC) <sub>5</sub>	3,27	4,82	1,47	4,20	-19
30 Poly(TMC) <sub>6</sub>	3,33	5,83	1,75	4,52	-17
Poly(TMC) <sub>7</sub>	3,37	5,59	1,67	4,49	-17
Poly(TMC) <sub>8</sub>	3,55	6,17	1,74	4,85	-18

De Young's Modulus, de zwichtspanning ( $\sigma_{\text{zwicht}}$ ) en de maximale spanning ( $\sigma_{\text{max}}$ ) als functie van het aantal gemiddelde molecuul gewicht ( $\bar{M}_n$ ) van de poly(TMC)polymeren wordt weergegeven in figuur 1.

## 5 Het vormen van polymeer structuren

Persen van de gezuiverde polymeren werd uitgevoerd met behulp van een Fontijne laboratorium drukpers THB008 in roestvrijstalen mallen met een dikte van 600  $\mu\text{m}$ . De films werden geperst bij 140 °C en vervolgens onder druk gekoeld tot 15 °C.

### Gamma bestraling

Poly(TMC) monsters werden geplaatst in zakken van poly(ethyleen)/poly(amide) onder vacuüm, onder  $\text{N}_2$ , of onder lucht en afgesloten. De monsters werden blootgesteld aan 15, 25 en 50 kGy gammastraling verkregen van een  $^{60}\text{Co}$  bron.

Evenwicht zwellingsexperimenten werden uitgevoerd in chloroform bij kamertemperatuur. De monsters werden gedurende één week gezwollen voor het bereiken van evenwicht en vervolgens werden de geëxtraheerde gelen gedroogd in een vacuüm bij kamertemperatuur gedurende twee weken totdat zij een constant gewicht hadden. De gel- en de solfracties van de bestraalde monsters werden berekend.

## RESULTATEN

Na bestraling werden structuren van poly(TMC) verkregen met een zwelgraad en een gelfractie zoals wordt weergegeven in tabel II.



Tabel II

Bestralingsdosis (kGy)	Zwelgraad (%)	Gelfractie (wt%)
15	355	15
25	140	33
40	61	51

Tabel III geeft weer de zwelgraad en de gelfractie van poly(TMC) na een bestraling van 25 kGy onder vacuüm, onder stikstof en onder lucht.

Tabel III

Atmosfeer	Zwelgraad (%)	Gelfractie (wt%)
vacuüm	84	54
stikstof	83	48
lucht	107	29

Een grote verbetering werd waargenomen met betrekking tot de permanente deformatie bij cyclische deformatie tot 50% rek van de bestraalde monsters. In vergelijking met de onbehandelde monsters vertonen de bestraalde monsters een beter herstel 2 uur na 20 (respectievelijk 3% versus 4,6%) opeenvolgende deformatie cycli (Figuur 2) en een veel hogere kruipweerstand (Tabel IV).

Tabel IV

5	Aangelegde spanning (MPa)	Plateau kruipsnelheid ( $s^{-1}$ ), vacuüm	Plateau kruipsnelheid ( $s^{-1}$ ), lucht	Plateau kruipsnelheid ( $s^{-1}$ ) onbehandeld
	0,1	$0,4 \times 10^{-5}$	$0,9 \times 10^{-5}$	$1,9 \times 10^{-5}$
	0,2	$1,2 \times 10^{-5}$	$1,9 \times 10^{-5}$	$2,4 \times 10^{-5}$
	0,4	$2,7 \times 10^{-5}$	$8,8 \times 10^{-5}$	$3,8 \times 10^{-5}$
	0,6	$6,5 \times 10^{-5}$	-	$12,5 \times 10^{-5}$

## 10 CONCLUSIE

Gammabestraling van poly(TMC) resulteert in gelijktijdige verknoping en ketenbreuk. De verhouding tussen ketenbreuksnelheid en verknopingsnelheid is per eenheid bestralingsdosis 0,78. Na bestraling van de polymeerstructuur wordt een onoplosbaar netwerk gevormd met meer verknoping bij een verhoging van de stralingsdosis. De mechanische eigenschappen van de bestraalde polymeerstructuren worden sterk verbeterd na bestraling met name gelet op de kruipeigenschappen.

## CONCLUSIES

1. Structuur van poly(1,3-trimethyleen  
carbonaat) (poly(TMC)) verkrijgbaar door:

- 5           a) het verschaffen van poly(1,3-trimethyleen  
            carbonaat) (poly(TMC));
- b) het vormen van het poly(1,3-trimethyleen  
            carbonaat) (poly(TMC)) tot een structuur; en
- 10           c) het bestralen van de genoemde structuur met  
            actinische straling in een inerte atmosfeer.

2. Structuur volgens conclusie 1, waarbij het  
poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) wordt  
gekaracteriseerd door een aantal gemiddelde molecuul gewicht  
15 ( $\overline{M}_n$ ) groter dan 50000, de voorkeur geniet 50000 tot 300000,  
meer de voorkeur geniet 100000 tot 200000.

3. Structuur volgens conclusies 1-2, waarbij de  
actinische straling wordt gekozen uit de groep die bestaat  
20 uit gammastraling, hoogenergetische UV straling en  
elektronenstraling, de voorkeur geniet gammastraling.

4. Structuur volgens conclusies 1-3, waarbij de  
actinische straling gammastraling is en de stralingsdosis 5-  
25 100 kGy is, de voorkeur geniet 10-45 kGy.

5. Structuur volgens conclusies 1-4, waarbij de  
inerte atmosfeer wordt verkregen door middel van een  
gereduceerde druk van minder dan  $10^4$  Pa.

6. Structuur volgens conclusies 1-4, waarbij de inerte atmosfeer wordt verkregen door middel van een inert gas, de voorkeur geniet stikstof.

5           7. Structuur volgens conclusies 1-6, waarbij de kruipsnelheid kleiner is dan ongeveer  $1,9 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  bij 0,2 MPa.

10           8. Structuur volgens conclusies 1-7, waarbij de zwelgraad minder is dan 400 (%) in chloroform.

9. Structuur volgens conclusies 1-8, waarbij de gelfractie meer is dan 10 gewichtsprocent.

15           10. Structuur volgens conclusies 1-9, waarbij de structuur één of meerdere malen opnieuw wordt gesteriliseerd, de voorkeur geniet sterilisatie in een autoclaaf.

20           11. Werkwijze voor het verkrijgen van de structuur volgens elk van de conclusies 1-10 welke werkwijze omvat

- a) het verschaffen van poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC));
- b) het vormen van het poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) tot een structuur; en
- 25           c) het bestralen van de genoemde structuur met actinische straling in een inerte atmosfeer.

30           12. Werkwijze volgens conclusie 9, waarbij het poly(1,3-trimethyleen carbonaat) (poly(TMC)) wordt gekarakteriseerd door een aantal gemiddelde molecuul gewicht ( $\overline{M}_n$ ) groter dan 50000, de voorkeur geniet 50000 tot 300000, meer de voorkeur geniet 100000 tot 200000..

13. Werkwijze volgens conclusies 11-12, waarbij de actinische straling wordt gekozen uit de groep die bestaat uit gammastraling, hoogenergetische UV straling en elektronenstraling, de voorkeur geniet gammastraling.

5

14. Werkwijze volgens conclusies 11-13, waarbij de actinische straling gammastraling is en de stralingsdosis 5-100 kGy is, de voorkeur geniet 15-40 kGy.

10

15. Werkwijze volgens conclusies 11-14, waarbij de inerte atmosfeer wordt verkregen door middel van een gereduceerde druk van minder dan  $10^4$  Pa.

16. Werkwijze volgens conclusies 11-14, waarbij de bestraling wordt uitgevoerd in een inert gas, de voorkeur geniet stikstof.

17. Gebruik van de structuur volgens conclusies 1-10, of verkregen volgens de conclusies 11-16, in een implantaat en/of een matrix en/of een ondersteuningsinrichting.

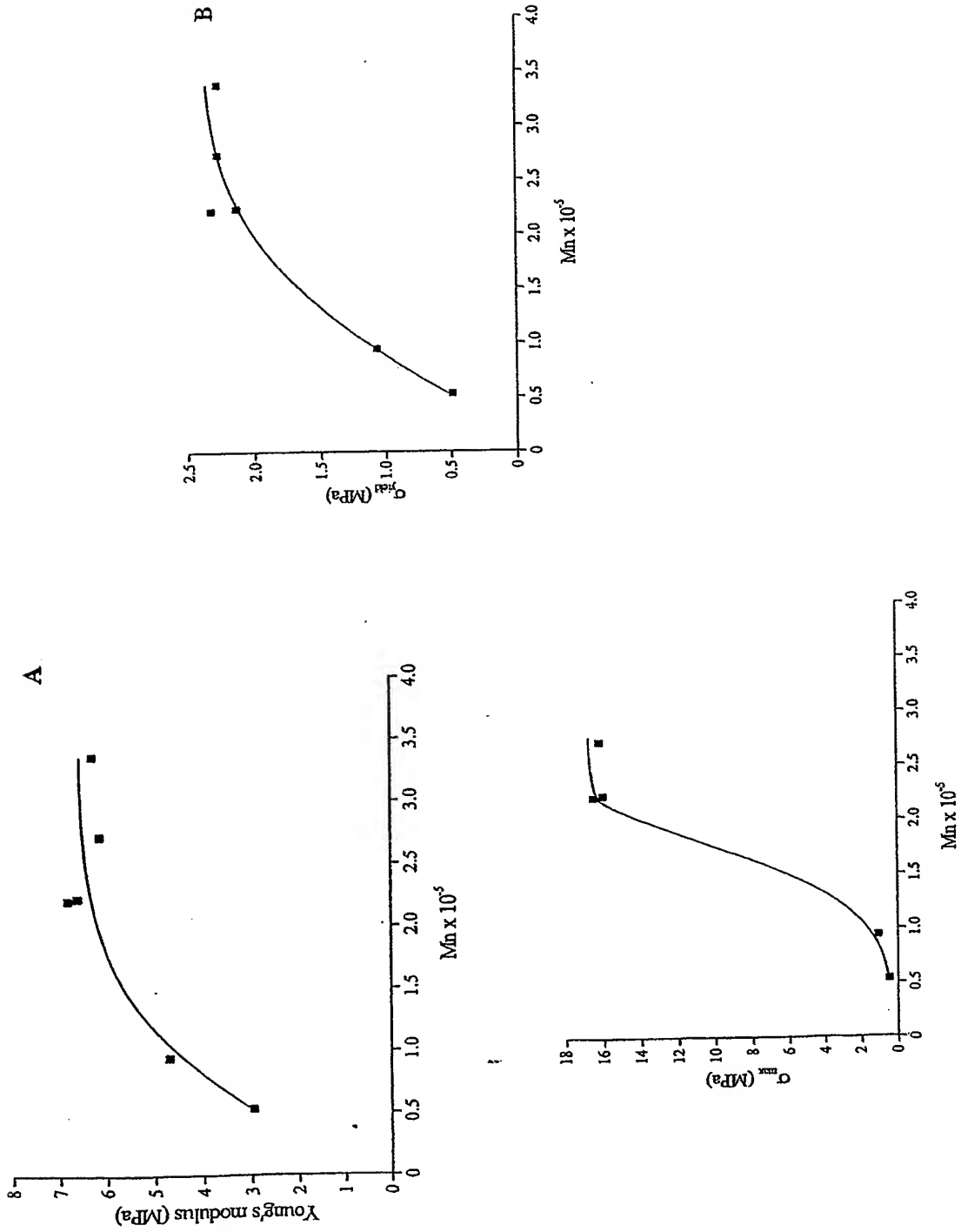
20

18. Medisch implantaat en/of matrix en/of ondersteuningsinrichting die omvat de structuur volgens de conclusies 1-10 of verkregen in de werkwijze volgens conclusies 11-16.

25

173

Figure 1



- Figuur 2

